

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1923

THÈSE

310

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

TECHNIQUE DES MANIPULATIONS

ET

CONTRIBUTION A L'ETUDE

DU

Bactériophage de d'Hérelle

PAR

PAUL CAUBLOT

Président : M. BEZANÇON, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1923

310

THÈSE
POUR
LE DOCTORAT EN MÉDECINE

310

THE

100

OF THE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1923

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

TECHNIQUE DES MANIPULATIONS

ET

CONTRIBUTION A L'ETUDE

DU

Bactériophage de d'Hérelle

PAR

PAUL CAUBLLOT

Président : M. BEZANÇON, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

—
1923

Faculté de Médecine de Paris

DOYEN.....

PROFESSEURS.....

Anatomie.....
Anatomie médico-chirurgicale.....
Physiologie.....
Physique médicale.....
Chimie organique et chimie générale.....
Bactériologie.....
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....
Pathologie et Thérapeutique générale.....
Pathologie médicale.....
Pathologie chirurgicale.....
Anatomie pathologique.....
Histologie.....
Pharmacologie et matière médicale.....
Thérapeutique.....
Hygiène.....
Médecine légale.....
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....
Pathologie expérimentale et comparée.....

Clinique médicale.....

Hygiène et clinique de la 1^{re} enfance.....
Clinique des maladies des enfants.....
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'en-
céphale.....
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....
Clinique des maladies du système nerveux.....
Clinique des maladies contagieuses.....

Clinique chirurgicale.....

Clinique ophtalmologique.....
Clinique des maladies des voies urinaires.....

Clinique d'accouchement.....

Clinique gynécologique.....
Clinique chirurgicale infantile.....
Clinique thérapeutique.....
Clinique oto-rhino-laryngologique.....
Clinique thérapeutique chirurgicale.....
Clinique propédeutique.....

M. ROGER

MM.

NICOLAS
CUNEO
CH. RICHET
André BROCA.
DESGREZ
BEZANÇON
BRUMPT
MARCEL LABBE
RENON
LECENE.
LETULLE
PRENANT
RICHAUD
CARNOT
LÉON BERNARD
BALTHAZARD
MENETRIER
ROGER
ACHARD
WIDAL
GILBERT
CHAUFFARD
MARFAN
NOBECOURT

CLAUDE
JEANSELME
PIERRE MARIE
TEISSIER
DELBET
LEJARS
HARTMANN
GOSSET
DE LAPERSONNE
LEGUEU
BRINDEAU
JEANNIN
COUVELAIRE
J. L. FAURE
AUGUSTE BROCA
VAQUEZ
SEBILEAU
DUVAL
SERGENT

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ABRAMI
ALGLAVE
BASSET
BAUDOIN
BLANCHETIERE
BRANCA
CAMUS
CHAMPY
CHEVASSU
CHIRAY
CLERC
DEBRE
DESMAREST

DUVOIR
FIESSINGER
GARNIER
GOUGEROT
GREGOIRE
GUENIOT
GULLAIN
HEITZ-BOYER
JOYEUX
LABBE (HENRI)
LAINEL-LAVASTINE
LANGLOIS

LARDENNOIS
LE LORIER
LEMIERRE
LEQUEUX
LEREBoullet
LERI
LEVY-SOLAL
MATHIEU
METZGER
MOCQUOT
MULON
OKINCZYC
PHILIBERT

RATHERY
REITTERER
RIBIERRE
ROUSSY
ROUVIERE
SCHWARTZ (A)
TANON
TERRIEN
TIFFENEAU
VILLARET

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les options émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

A MA SOEUR

A MES FRÈRES

A M. LE DOCTEUR F. BEZANÇON

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
MÉDECIN DE L'HOPITAL BOUCICAUT
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

*Qui a bien voulu nous faire l'honneur
d'accepter la présidence de notre
thèse.*

A NOTRE MAITRE

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ PHILIBERT

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

En témoignage de profonde gratitude.

A NOTRE AMI LE DOCTEUR J. COMBES
MÉDECIN DES HOPITAUX DE MARSEILLE

A M. LE DOCTEUR PAUL HAUDUROY
CHEF DE LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

A M. F. CORDEY
PRÉPARATEUR DE BACTÉRIOLOGIE
INTERNE DES HÔPITAUX

A MES CAMARADES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE MARSEILLE

A MES AMIS ET QUELQUES AUTRES

Introduction

Il n'a pas été fait, durant ces dernières années, de découverte qui ait autant passionné les bactériologistes et le monde savant que celle présentée par d'Hérelle dans une note à l'Académie des Sciences, le 3 septembre 1917. Nous la rappelons brièvement. « Le filtrat de selles de convalescents de dysenterie a la propriété de lyser une culture jeune de bacilles dysentériques ». Ce fait qui paraît banal en apparence a eu pour conséquences d'ébranler notre manière de concevoir le processus de guérison spontanée des maladies infectieuses et d'une façon plus générale ce que l'on appelle l'Immunité.

Les problèmes soulevés par cette notion nouvelle, introduite en bactériologie, d'un parasite des microbes sont encore à l'heure actuelle, malgré toute l'ardeur apportée à leur étude, bien loin d'être résolus.

Ce qui complique singulièrement la question, c'est que l'être en cause, le bactériophage de d'Hérelle échappe à nos moyens d'observation directe et qu'on ne peut affirmer son existence que par la constatation de faits que sa présence seule permet d'expliquer.

De nombreuses hypothèses, étayées sur une expérimentation et sur une observation qui ne sont pas toujours à l'abri d'une critique impartiale, ont prétendu

donner l'explication du phénomène de d'Hérelle ; aucune n'est assez vaste pour contenir d'une façon logique tout ce que nous connaissons à l'heure actuelle du bactériophage.

Ce sont ces connaissances que nous allons exposer ou, pour mieux dire, nous allons énumérer les faits observés par d'Hérelle et par tous ceux après lui qui se sont attachés à éclaircir le mystère du bactériophage, en les plaçant dans l'ordre qui nous paraît le plus rationnel.

Nous étudierons le phénomène d'abord, puis ses modalités ; nous envisagerons la question de la nature du bactériophage et nous verrons enfin la place qu'il est en droit d'occuper à l'heure actuelle dans notre arsenal thérapeutique. Nous continuerons par un bref exposé des diverses théories qu'il a suscitées sans nous arrêter à leur discussion. Nous relaterons pour terminer les expériences que nous avons faites personnellement et qui constitueront, en même temps que la partie originale de cette thèse, une modeste contribution à l'étude du bactériophage.

L'intérêt du sujet nous sera garant de l'indulgence du jury à l'égard de l'aridité de cet exposé, rempli de termes techniques inusités et, pardonnez-nous l'expression, d'argot de laboratoire.

Avant d'entreprendre ce travail, nous adressons à M. le Professeur agrégé Philibert nos remerciements émus pour la bonté avec laquelle il nous a accueilli et l'affabilité avec laquelle il nous a aidés dans notre travail de sa haute compétence et a mis à notre disposition tous les éléments de nos recherches.

Nous remercions également de grand cœur notre ami le Docteur Paul Hauduroy, chef de Laboratoire de bactériologie, qui nous a fait bénéficier de sa documentation précise et de son érudition, et notre ami F. Cordey, préparateur à la Faculté, dont le sens clinique très sûr s'allie à une connaissance approfondie de la science du Laboratoire.



CHAPITRE PREMIER

Aperçu Historique sur la Question

Il est intéressant de se rappeler, après les tentatives faites par de nombreux auteurs pour donner une explication au phénomène de d'Hérelle, que plusieurs expérimentateurs avant eux l'ont eu sous les yeux et ont manipulé le bactériophage sans toutefois pouvoir rapporter à leur véritable cause les incidents désagréables qui gênaient quelquefois leurs recherches microbiologiques.

On trouve la phrase suivante dans le « Traité de Microbiologie de Duclaux » : « Rappelons les curieuses expériences de Hankin sur les eaux de la Jumma et du Gange où l'on voit une eau courante être aussi bactéricide qu'une solution de sublimé et perdre ce pouvoir après une courte ébullition, sans qu'aucun précipité, sans que rien d'apparent explique ce changement de propriété (1898-1901) ».

En 1896, Hankin insiste (*Annales de l'Institut Pasteur*) sur cette action bactéricide (contre le vibron cholérique) qu'il attribue à une substance volatile.

Le second mémoire est de Twort (An investigation on the nature of the ultramicroscopic viruse. *The Lancet*, 4 décembre 1915). Cet auteur, au cours d'expériences sur le virus filtrant de la vaccine, avait obtenu, par ensemencement de pulpe vaccinale glycinée sur gélose une culture d'un microcoque, dont certaines colonies prenaient un aspect vitreux avec transformation granuleuse du microbe. Cette substance vitreuse, après filtration, avait le pouvoir de transformer à son tour une colonie normale. Elle se conservait active pendant plusieurs mois, mais était détruite à 60° c. Pour expliquer ce phénomène, Twort envisageait plusieurs hypothèses, mais il n'en retint aucune.

Eliava (d'Hérelle « Le Bactériophage », 1921) chargé d'examiner l'eau de la rivière Koura, qui passe à Tiflis, remarqua le fait suivant : ajoutant à l'eau suspecte une solution de peptone, il constatait, après quelques heures d'étuve, la présence de nombreux vibrions cholériques et une douzaine d'heures plus tard, toute trace de culture avait disparu. Eliava n'eut l'explication de ces faits que lorsque d'Hérelle eut fait ses communications sur le bactériophage.

En 1916 et 1917, dans le « *Centralblatt für Bakteriologie* » Gildemeister décrit des formes de transformations du B. dysentérique, du B. typhique et du colibacille.

Plus récemment, en 1920, Howard signale à la Société de biologie de Paris l'action lytique de certains sérums de typhiques, Beckerich et Hauduroy, en 1922, ont fait de semblables constatations et ils ont attribué ces faits à l'influence du bactériophage.

D'Hérelle, lui-même, s'appliquant à l'étude de la coccobacillose des sauterelles fut arrêté dans ses expériences par la lyse inexpiquée de ses cultures. Ce n'est que plus tard qu'il eut l'explication de ces faits.

Cette succession d'observations montre quelles étapes a franchies la question ; le principe lytique, appelé plus tard bactériophage, avait donc été entrevu par un grand nombre de bactériologistes, mais à d'Hérelle revient le mérite de l'avoir isolé et d'avoir donné de sa manipulation une technique précise à laquelle on n'a, depuis, apporté aucune modification.

Dans ces dernières années les nombreuses publications, issues du monde entier, témoignent de l'ardeur de certains bactériologistes à trouver l'explication du phénomène de d'Hérelle, la nature vraie du principe bactériophage et la part exacte qui lui revient dans la Pathologie ; en dépit, d'ailleurs, des progrès qu'a faits la question, le problème, à l'heure actuelle, est loin d'être résolu.

CHAPITRE II

Le Phénomène de d'Hérelle. — Recherches du Bactériophage. — Le Bactériophage et la Bactérie

Le Phénomène de d'Hérelle. — Nous allons décrire l'observation fondamentale qui a servi de départ aux recherches de d'Hérelle. Elle portait sur un malade atteint de dysenterie à b. Shiga, en traitement à l'hôpital Pasteur. Chaque jour d'Hérelle prélevait une dizaine de gouttes de déjections du malade, qu'il mélangeait à un tube de bouillon ; après 12 heures d'étuve à 37°, ce liquide était filtré sur bougie Chamberland L. 2 ou L. 3. Le filtrat obtenu était mis en contact avec une culture jeune de b. de Shiga, à raison de 10 gouttes pour un tube de bouillon, celle-ci continuait à pousser normalement ; mais un jour le bouillon resta stérile, le b. de Shiga ne s'était pas développé. Ce jour-là l'état du malade présentait, au point de vue clinique, une très grande amélioration bientôt suivie de convalescence.

Du tube de bouillon resté stérile, d'Hérelle préleva

quelques gouttes qu'il ajouta à une culture jeune de b. de Shiga, celle-ci fut lysée à son tour ; à partir de cette dernière et suivant la même technique, il obtint en série la clarification et la stérilisation de cultures du bacille, indéfiniment.

Opérant en milieu solide, sur gélose ordinaire inclinée, d'Hérelle observa qu'une émulsion de b. de Shigaensemencée avec le filtrat actif donnait une culture qui par endroits présentait des zones transparentes des « plages claires » qui étaient d'autant plus nombreuses que l'émulsion et le filtrat étaient demeurés plus longtemps en contact ; ces plages qui se développaient à la façon de véritables colonies microbiennes, rongeaient le microbe qui leur servait de milieu, étaient repiquables indéfiniment en présence du microbe qu'elles lysaient.

D'Hérelle tira de ces faits la conclusion suivante : il existe dans les selles d'un convalescent de dysenterie à b. de Shiga, un organisme, un être vivant, puisqu'il se reproduit, composé de particules invisibles qui lyse, c'est-à-dire clarifie et stérilise une émulsion de culture jeune de b. de Shiga. Ce principe actif, découvert dans l'intestin, parasite des bactéries, différent par ses propriétés des ferments solubles et des diastases, ayant les caractères biologiques d'un être vivant, fut appelé par lui « Bacteriophagum intestinale » sans rien préjuger d'ailleurs de sa véritable nature.

Nous verrons, au cours de cette brève étude, que le bactériophage n'existe pas seulement dans l'intestin de l'homme, mais qu'il est très répandu dans la nature et

qu'il manifeste son activité vis-à-vis des microbes les plus divers.

Tel est, exposé dans ses grandes lignes, le phénomène de d'Hérelle ; très simple en apparence, il est en réalité très complexe, et il convient avant d'en tirer des déductions relatives au rôle que l'on peut attribuer au bactériophage dans l'immunité et à son introduction possible dans la thérapeutique, de l'étudier plus attentivement.

Recherche du bactériophage. — Le matériel nécessaire à la recherche et à la culture du bactériophage est assez restreint. Il suffit d'un appareil à filtration par le vide, sur bougies Chamberland L. 3 à L. 5 et de milieux de cultures usuels, bouillons ordinaires, eau peptonée ou gélose ordinaire. Il convient de ne pas opérer avec un vide trop avancé ; le manomètre doit marquer une pression de 10 à 15 cm. de mercure. La recherche peut porter sur des matières solides ou liquides. Dans le cas où l'on opère sur des substances solides ou semi-liquides (selles, pus), il faut les broyer ou les diluer dans du bouillon, mettre le liquide obtenu 18 heures à l'étuve, à 37°, et procéder ensuite à une première filtration sur un filtre en papier plié, sur lequel on aura répandu au préalable une émulsion dans l'eau de terre d'infusoires. Si l'on a affaire à un liquide trouble (culture abondante de microbes dans le bouillon, eau riche en matières organiques), on procédera de même pour éviter le colmatage trop rapide de la bougie ; si l'on s'adresse à un liquide clair, on pourra filtrer directement. Il reste à rechercher si dans le filtrat obtenu existe le bactériophage et contre

quelle bactérie, déterminée ou non, il manifeste sa virulence.

Envisageons le cas le plus simple, celui de l'expérience fondamentale de d'Hérelle. Il s'agit de rechercher si les selles d'un convalescent de dysenterie à b. de Shiga renferment un bactériophage anti-Shiga ; les selles ont été filtrées comme nous l'avons indiqué. On a, d'autre part, deux tubes de bouillon renfermant une émulsion égale de b. de Shiga, âgée de 24 heures. On ajoute dans le premier tube, 10 gouttes du filtrat, le second tube étant conservé comme témoin ; on met ensuite à l'étuve à 37° et on laisse 24 heures. Au bout de ce temps, on lit les résultats. Dans le cas où le filtrat renfermait un bactériophage très actif, le tube 1 est tout à fait limpide, l'autre présentant une culture abondante du bacille. Dans le cas où le filtrat ne renferme pas de bactériophage, les deux tubes sont également troubles. Ceci est assez schématique et traduit les deux cas extrêmes : celui où le bactériophage existe avec une très grande virulence et celui où il est absent ; mais il faut savoir qu'il existe une gamme infinie de virulence de bactériophage qui se traduit par une abondance de culture variable également à l'infini ; et si l'on suit la technique que nous avons indiquée, un bactériophage de virulence atténuée risque fort de n'être pas décelé par ce simple examen ; une technique beaucoup plus sensible consiste à ensemencher simultanément en bouillon le filtrat et la bactérie et à mettre 12 heures à l'étuve ; de la sorte, les bactéries, s'il y a un bactériophage, sont attaquées au fur et à mesure de leur

naissance, et n'ont pas le temps d'acquérir une immunité contre lui.

Hauduroy préconise une méthode plus précise encore, elle consiste à opérer comme ci-dessus, mais à la température du Laboratoire, ce qui met la bactérie dans de mauvaises conditions de développement, sans nuire, toutefois, à celui du principe bactériophage. De toutes façons, c'est par comparaison avec une culture en bouillon, identique avec la première, mais n'ayant pas reçu de filtrat, que l'on pourra conclure à la présence de bactériophage virulent.

Quelle que soit la sensibilité des techniques que nous venons de décrire, il est des cas où l'œil ne décelé aucune nuance entre le tube qui a reçu le filtrat et le tube témoin. On n'est pas encore en droit de conclure à l'absence de bactériophage. Il convient alors de prélever une ôse du contenu du premier tube (culture plus filtrat) et de l'ensemencer en surface sur trois tubes de gélose inclinée ; après 24 heures d'étuve, s'il existe un bactériophage actif, la culture, au lieu de s'étaler en une couche uniforme, présente des trous, des plages claires, aux bords déchiquetés très faciles à reconnaître et qui ne sont ni plus ni moins que des colonies de bactériophage. Leur nombre et leurs dimensions sont variables avec la quantité d'éléments bactériophages et avec leur virulence.

Le bactériophage et la bactérie. — Que faut-il entendre par ce terme de virulence appliqué au bactériophage ? Sans rien préjuger de son mode d'action, ni de la part

exacte qui lui revient dans le phénomène de la lyse, on peut dire que c'est son aptitude à vivre et à se multiplier aux dépens d'un microbe ; au moment où il vient d'être prélevé et quelle que soit sa provenance (organisme, terre, eau, etc...), le bactériophage est généralement actif contre plusieurs bactéries et possède pour chacune d'elles une virulence variable (d'Hérelle).

Bien plus, de même qu'un microbe pathogène présente pour un même organisme de grandes variations de virulence, de même vis-à-vis d'une même bactérie, le bactériophage peut se montrer plus ou moins actif. Cette activité du bactériophage s'exalte par des passages en série sur la bactérie, tout comme s'exalte la virulence de cette dernière par des passages successifs sur l'animal. Inversement, la bactérie attaquée se défend et acquiert, dans certaines circonstances, une véritable immunité contre le bactériophage pathogène.

Ces variations de virulence sont dûs à la quantité d'éléments bactériophages présents et surtout à leur qualité, autrement dit à la rapidité avec laquelle ils se multiplient. Cette rapidité se mesure par la numération des colonies du bactériophage que présente sur gélose une culture de la bactérie ensemencée avec une certaine quantité de bactériophages. Voici d'ailleurs comment on procède : on ajoute à 10 centimètres cubes d'émulsion de b. de Shiga, $1/10$ de cm^3 de bactériophage, on place à l'étuve à 37° ; d'heure en heure, on ensemence $1/100$ de cm^3 de cette émulsion sur tube de gélose et après un séjour de 24 heures à l'étuve on compte les plages claires ; dans le tube ensemencé de suite, on trouvera par exemple 10 plages,

dans un tube ensemencé une heure après, on en trouvera 30, et ainsi de suite. On peut de cette manière se faire une idée de la rapidité avec laquelle s'est développé le bactériophage et il est aisé, puisqu'on connaît à quel taux de dilution on opère, de compter le nombre d'éléments bactériophages contenus dans un volume donné d'émulsion.

On pourrait de ce qui précède tirer cette conclusion, qu'un bactériophage, même peu actif vis-à-vis d'une bactérie, doit arriver au bout d'un temps suffisamment long, à lyser complètement une culture de cette bactérie. Ceci serait exact si dans le système de la réaction la bactérie restait passive ; en réalité, il en est tout différemment ; contre le bactériophage pathogène et par des moyens qui nous échappent encore, la bactérie lutte et résiste quelquefois victorieusement. Dans ces cas, après une lyse partielle et passagère, on voit la culture se troubler de nouveau. Quelquefois même, après plusieurs jours d'étuve, des cultures qui paraissaient complètement lysées et stériles présentent une nouvelle génération. Les examens microscopiques et biochimiques montrent que la bactérie en jeu est bien celle qui a été ensemencée avec le bactériophage. Ce sont les cultures secondaires. Dans le cas d'une culture qui a été complètement lysée, au moins en apparence, la culture secondaire peut n'apparaître qu'au bout de 7 ou 8 jours et plus d'étuve et il est curieux de noter que les ensemencements pratiqués pendant ce délai à l'aide de ce lysat ne donnent absolument aucune colonie. Il faut admettre qu'il s'écoule entre le moment

où la lyse est achevée et celui où se produit la culture secondaire une période où la bactérie inapte à se multiplier s'adapte à son nouveau milieu.

Nous avons parlé tout à l'heure de la virulence variable du bactériophage ; il convient de noter aussi que la bactérie présente une résistance au bactériophage, variable également à l'infini et qu'il n'existe pas par exemple deux races de *b. de Shiga* se comportant d'identique façon vis-à-vis d'un bactériophage anti-Shiga, chaque race pouvant d'ailleurs se montrer suivant son âge et ses antécédents biologiques plus ou moins résistante. Nous allons voir qu'après sa sortie de l'organisme, la résistance à la lyse d'une bactérie s'accroît par le mécanisme de la sélection naturelle.

Deux hypothèses pourraient donner la raison des cultures secondaires :

- 1° Une diminution de la virulence du bactériophage ;
- 2° Une augmentation de la résistance de la bactérie, certains individus pouvant arriver comme nous l'avons signalé à acquérir une véritable immunité contre le bactériophage et constituant dès lors une race modifiée et constamment résistante.

En fait, il semble que les expériences tranchent en faveur de cette dernière conception.

Nous avons signalé, en effet, et cela se vérifie d'une façon constante, que par des passages en série sur l'organisme bactérien, la virulence du bactériophage ne peut que s'exalter ; ceci se vérifie même dans le cas où un bactériophage peu actif donne des lyses invisibles macroscopiquement. Les cultures secondaires sont dues par con-

séquent à des individus bactériens anormalement résistants. D'ailleurs, dans le milieu de la lyse, s'établit un équilibre entre le bactériophage plus ou moins virulent et la bactérie plus ou moins résistante ; cet équilibre peut, dans une certaine mesure, être rompu artificiellement en faveur de l'un ou de l'autre des deux éléments. C'est ainsi que certains sels de plomb, d'argent, ajoutés en très faible quantité favorisent l'apparition des cultures secondaires. Inversement, les phosphates solubles, le sulfate de magnésie, le chlorure de sodium et la glycérine qui entravent le développement de la bactérie, sans nuire au bactériophage, facilitent l'action de ce dernier.

Nous examinerons plus en détail, au chapitre suivant, ce que l'on observe si l'on apporté des modifications physiques, chimiques ou biologiques dans le milieu. En résumé, moins le bactériophage est virulent, et plus nombreuses seront les cultures secondaires.

Les cultures renfermant à la fois des bactéries lysables et des bactéries résistantes sont appelées par d'Hérelle, cultures mixtes.

Cette notion nouvelle de l'existence des cultures mixtes, explique pourquoi entre chacun des passages destinés à accroître la virulence du bactériophage, il est utile d'opérer une filtration. Celle-ci a pour but d'éliminer les bactéries qui ont déjà acquis un certain état de résistance, qui se renforcerait parallèlement à la virulence du bactériophage ; en filtrant on fait agir à chaque passage un bactériophage de plus en plus actif sur des bactéries dépourvues de résistance et on s'oppose à leur sélection naturelle.

Lorsque l'on étudie les caractères morphologiques que présentent les cultures secondaires, on voit qu'elles diffèrent considérablement des cultures de bactéries normales ; en bouillon, il se forme des agglutinats que l'agitation ne dissocie pas et qui se déposent au fond du tube ou sur les parois. Ces agglutinats, même après lavage, mis en présence de cultures normales jeunes en bactéries, en déterminent la lyse, ils constituent les races lysogènes (nous reviendrons plus loin sur cette dernière particularité).

Pour étudier la morphologie des cultures mixtes, il convient de les étaler sur gélose ; sur ce nouveau milieu, nous l'avons déjà vu, l'action du bactériophage s'exerce mieux, pour cette raison sans doute qu'il y est en contact plus intime et plus constant avec la bactérie que dans un milieu liquide. Selon la virulence du bactériophage on trouve des colonies presque normales ou bien des colonies muqueuses réfringentes, de nature presque zoogléliques, difficiles à dissocier, et qui, repiquées sur gélose, donnent des colonies semblables, qui sont des amas de bactéries résistantes. Mises en présence d'une culture solide de *b. de Shiga*, ces colonies déterminent, au point d'ensemencement, des plages d'abord, provenant de la lyse des bactéries normales et secondairement des colonies réfringentes, analogues à celles dont on est parti (bactéries lysogènes).

Comme il faut s'y attendre, les modifications morphologiques des colonies ne sont que la traduction des modifications subies par la bactérie.

Si l'on suit la lyse au microscope en faisant des examens

répétés des bacilles après coloration par la méthode de Gram, on observe que les bactéries, après un temps variable selon l'activité du bactériophage, prennent d'abord moins fortement les colorants, le nombre de bacilles mal colorés va en augmentant en même temps que les corps microbiens se déforment ; ils augmentent plusieurs fois de volume, prennent un aspect ovoïde régulier ou renflé en massue, puis sous l'influence du parasite, ils semblent éclater en petits fragments informes qui achèvent de se dissoudre et finissent par disparaître complètement (d'Hérelle a observé cet éclatement en suivant la lyse à l'ultra microscope).

Si le parasite est suffisamment virulent, toutes les bactéries subissent le même sort, c'est la lyse complète ; dans le cas contraire, à côté des éléments déformés et éclatés que nous venons de voir persistent des éléments microbiens à forme tout à fait normale, c'est le cas de la lyse incomplète où le milieu s'éclaircit plus ou moins, sans arriver jamais à la limpidité parfaite.

Les colonies secondaires zoogléliques repiquables en série, dont nous avons parlé, examinées au microscope, montrent des formes différentes selon leur âge. Dans les deux ou trois premiers jours on trouve des formes de bactéries géantes, ovoïdes, en massues, ou très allongées, à côté des débris provenant de la destruction des corps microbiens. Plus vieilles, ces colonies sont composées constamment d'éléments bacillaires ou cocciformes. Ces observations sont exactes pour les divers microbes que nous avons étudiés, colibacille, bacille de Shiga et staphylocoque. Nous avons même observé, mais passagère-

ment, des formes analogues au cours d'un essai d'adaptation d'un bactériophage à la bactéridie charbonneuse, sans avoir pu d'ailleurs obtenir de résultats plus décisifs. Ces formes dernières semblent constituer les formes de résistance de la bactérie.

Il est à noter que les colonies secondaires bien caractérisées, redonnent, après un nombre variable de passages, des colonies normales.

A côté des modifications morphologiques ci-dessus signalées, il en est de biologiques qui sont importantes à étudier. Les races résistantes aux bactériophages présentent avec les races normales des différences dans leur action fermentative sur les sucres et dans la production des gaz. (Nous n'entrerons pas dans ces détails).

De plus, les races résistantes sont hypo-agglutinables par un sérum spécifique, mais repiquées à plusieurs reprises, elles sont de nouveau agglutinées par le sérum anti à un taux normal.

Ainsi donc, le phénomène de d'Hérelle nous apparaît être l'expression de la lutte entre l'organisme microbien et le bactériophage pathogène ; selon l'aptitude de l'un à se défendre et la virulence de l'autre, l'issue est en faveur du premier ou du second ; pour résister le microbe se modifie dans sa forme et présente des caractères cultureux nouveaux ; ses propriétés ainsi acquises se transmettent héréditairement pendant un certain nombre de générations. D'autre part, la virulence du bactériophage va en augmentant au fur et à mesure qu'il détruit un plus grand nombre de microbes ; à son maximum d'activité il tue à doses infinitésimales une culture

jeune de microbes. Cette lyse microbienne peut se répéter à l'infini en prenant certaines précautions.

Les races résistantes, c'est-à-dire non lysables, peuvent être lysogènes, c'est-à-dire que, mises en contact avec une culture de bactéries normales, elles sont capables d'en déterminer la lyse. On peut les considérer comme des races porteuses de germes.

CHAPITRE III

De quelques Propriétés du Bactériophage

Nous avons envisagé, dans le chapitre précédent, l'action réciproque du bactériophage et de la bactérie mis en présence dans des conditions toujours identiques. Nous allons passer en revue quelles modifications au phénomène peuvent amener celles physiques, chimiques ou biologiques qu'il est possible, dans le domaine restreint de l'expérimentation, de faire subir au milieu où se passe la réaction. Nous étudierons brièvement l'action de quelques corps chimiques en montrant ce que l'on peut déduire de ces faits au point de vue thérapeutique ; ensuite, l'influence très intéressante de la chaleur qui nous renseignera peut-être sur la nature vraie du bactériophage. Nous verrons enfin dans quel sens s'exerce l'action d'un sérum agglutinant ajouté au système lytique.

Nous avons signalé plus haut l'action sur la lyse de quelques corps ; nous allons étudier plus spécialement leur influence sur le bactériophage.

Le bactériophage ne se comporte pas de même façon vis-à-vis de tous les antiseptiques : le chloroforme, l'éther, l'acétone, le xylol ne l'altèrent pas, mais il est détruit par un contact un peu prolongé avec l'alcool ; il n'est pas tué par l'essence de thym ou de girofle, mais son pouvoir lytique est momentanément supprimé ; le fluorure de sodium a la même action ; le bactériophage est très sensible à l'alcalinité du milieu et surtout à son acidité. Les limites extrêmes compatibles avec sa vie sont à peu près celles de la plupart des microbes. Voici d'ailleurs quelques chiffres (en bouillon, chiffres variables avec le milieu) :

Bactériophage.....	Ph. 2,5 à 8,54 (Eliava et Pozerski)	
B. typhiques.....	6,2 à 7,6	OPT. 6,8 7,2
Para A.....	4,5 à 7,8	6,4 7,0
Para B.....	4,5 à 8,5	6,4 7,2
Pol Bac.....	4,4 à 7,8	6,0 7,0
Staphylocoque doré...	5,6 à 8,1	7,2 7,6

Parmi les antiseptiques, il en est deux particulièrement intéressants, parce qu'ils mettent en évidence des caractères biologiques très nets du bactériophage : la glycérine et les sels de quinine. Le bactériophage reste vivant très longtemps dans la glycérine, étendue de son volume de bouillon ou d'eau physiologique, alors qu'à cette dilution, la glycérine exerce une action empêchante sur le développement des microbes.

Une émulsion microbienne dans une eau glycinée est donc lysée par le bactériophage, et ce dernier reste vivant dans le milieu, même après que l'on a laissé s'éva-

porer lentement toute l'eau et qu'il ne reste plus qu'un culot de glycérine.

Le bactériophage s'est donc accoutumé à un milieu dans lequel il aurait été tout d'abord détruit. L'accoutumance est une propriété exclusive des êtres vivants (Hérelle).

Les sels de quinine, même à très faible dose, s'opposent à la production du phénomène de la lyse. Une solution de 0,75 % d'un sel neutre de quinine a un pouvoir d'inhibition passager ; une solution à 1 % tue le bactériophage en 30 minutes. On voit toute l'importance de ce fait au point de vue de la thérapeutique ; dans certaines maladies infectieuses, celles au moins où il semble que le bactériophage soit l'agent de la guérison naturelle (infections par le b. d'Eberth, par les b. paratyphiques, dysentériques, etc...), l'administration de quinine sous toutes ses formes, au lieu de favoriser le processus de guérison, semble faciliter au contraire la pullulation des germes infectants par suppression du bactériophage antagoniste.

L'action de la chaleur sur le bactériophage a donné lieu à d'intéressantes controverses. D'après d'Hérelle, le principe lytique est tué par un séjour de 30 minutes à la température de 65° c. D'autres auteurs ont indiqué des températures un peu différentes ; pour Hauduroy qui a étudié cette question systématiquement, la température à laquelle il est tué est beaucoup plus élevée. Les chauffages aux températures indiquées par les auteurs précédents n'ont pour effet que d'inactiver momentanément le bactériophage qui peut par la suite récupérer toute sa viru-

lence si on lui fait subir un nombre suffisant de passages. Ce degré thermique d'inactivation est variable selon la souche microbienne étudiée et, pour une même souche microbienne, selon l'activité que le bactériophage témoigne vis-à-vis d'elle. Plus un bactériophage est virulent et plus sa température d'inhibition est élevée ; autrement dit, en rendant un bactériophage de plus en plus actif par des passages répétés sur une bactérie on élève parallèlement la température à laquelle son activité sera supprimée ; ceci indépendamment de la température de mort du microbe lysable.

Si nous reprenons donc le bactériophage, chauffé au point limité où il cesse de produire la lyse (absence de lyse claires sur gélose inclinée), et si nous lui faisons subir, aux dépens de son microbe, une série de passages, au bout d'un certain temps la lyse réapparaît avec tous ses caractères, Hauduroy a montré que le bactériophage n'est tué qu'à la température de 102° en milieu humide, de 135° à l'état sec, après précipitation par l'alcool et chauffage au four. A ce moment, quel que soit le nombre de passages effectués, on n'observe définitivement plus de lyse ; ces chiffres ont été vérifiés pour toutes les souches bactériophages étudiées par l'auteur (15).

Cette propriété que possède un bactériophage d'une certaine virulence pour un microbe d'être inactivé à une température déterminée permet, dans un complexe constitué par des races de bactériophages actives contre autant d'espèces microbiennes de détruire successivement, par des chauffages progressifs tous les bactériophages, les moins virulents d'abord, puis les plus actifs, et de

pouvoir ainsi, dans une certaine mesure, les dissocier. Nous verrons plus loin comment ces faits ont été interprétés en faveur de l'unicité du bactériophage.

D'Hérelle a montré encore que le bactériophage possède un pouvoir opsonique énergique vis-à-vis des bactéries qu'il lyse, variable d'ailleurs suivant sa virulence, c'est-à-dire que la phagocytose d'une bactérie est beaucoup plus intense si elle se produit en présence du bactériophage anti. Cette action serait due non pas au germe bactériophage lui-même, mais à un principe lytique qu'il sécréterait (p).

Il faut noter inversement que les bactéries qui résistent à l'action du bactériophage se montrent également réfractaires à la phagocytose ; on entrevoit par là un nouveau mode de l'intervention du bactériophage, soit dans l'état d'immunité d'un organisme, soit dans la guérison naturelle des maladies par infection microbienne.

Dans cet ordre d'idées il était intéressant de rechercher comment se modifiait le phénomène de la lyse si l'on ajoutait aux éléments habituels un sérum spécifique contre la bactérie en jeu. Pour faire cette étude, Hauduroy procéda de la manière suivante : dans une série de tubes il ensemença des quantités égales de bacilles de Shiga et il ajouta dans chaque tube une goutte d'un bactériophage actif, quantité suffisante pour produire la lyse, ensuite il répartit dans ces tubes des doses croissantes de sérum dysentérique anti-Shiga et constata que la lyse était plus difficile au fur et à mesure que les quantités de sérum ajoutées étaient plus considérables et qu'elle finissait même par être complètement empêchée. Les

diverses causes d'erreurs pouvant provenir du microbe ou du sérum ayant été écartées, l'auteur arrive à cette conclusion que le sérum agit en « fixant » une substance que l'on ne peut définir, secrétée par le microbe, dont la présence dans le milieu est indispensable pour que puisse s'opérer la lyse ; plus l'on a ajouté de sérum et plus la lyse est retardée, jusqu'au moment où le sérum étant pour ainsi dire saturé par ce produit de sécrétion, elle peut de nouveau se produire.

Ce fait éclaire d'un jour nouveau le phénomène de d'Hérelle en montrant comment le microbe y prend une part active ; on comprend pourquoi le bactériophage n'a aucune action lytique sur des microbes tués par n'importe quel procédé, et pourquoi sa virulence n'est pas la même pour diverses souches d'un même microbe.

Hauduroy en tire une autre conclusion, il attribue la variabilité de virulence du bactériophage à la quantité plus ou moins grande de produit de sécrétion microbienne qu'il renferme : les passages qui exaltent l'activité du bactériophage n'agissent pas autrement qu'en enrichissant ce dernier en principe microbien ; c'est celui-ci qui est spécifique et que le chauffage détruit, rendant dès lors la lyse impossible ; de nouveaux passages permettant au bactériophage de récupérer cet élément venu du microbe, régénèrent sa virulence. Ces faits plaideraient en faveur de l'unicité du bactériophage, mais dans ces conditions, il nous semble qu'une souche du bactériophage anti-Shiga devrait pouvoir s'adapter aisément à une souche de staphylocoque doré par exemple, reconnu par ailleurs, lysable par un autre bactériophage ; il n'en

est rien ; nous avons personnellement essayé d'adapter un bactériophage anti-coli à un staphylocoque doré (parfaitement lysable par ailleurs), sans avoir pu y parvenir, même après plusieurs passages.

Cette hypothèse, je veux dire l'adaptation d'un certain bactériophage à un microbe sécrétant le principe supposé par Hauduroy ne se vérifie que pour des races microbiennes très voisines, telles que coli-b., b. typhique, paratyphiques, etc..., où certains bactériologistes ne voient que des modalités d'une seule et même espèce.

Il semble donc, en fin de compte, que l'on ne soit pas en droit de repousser complètement l'idée de spécificité du principe lytique, ce qui reviendrait à envisager la pluralité des espèces des bactériophages.

Nous nous sommes occupé jusqu'ici des phénomènes que l'on observe in-vitro ; il serait d'un intérêt capital de connaître ce qui se passe chez l'animal.

Cette expérimentation, malheureusement, est à peu près impossible et l'on est réduit, pour le moment, relativement à la formation du bactériophage dans l'organisme ou à sa présence continue, mais localisée dans certains organes ou dans les humeurs, à se contenter d'hypothèses.

CHAPITRE IV

Le Bactériophage et l'Immunité. — Le Bactériophage en Thérapeutique

On croyait tout d'abord que le bactériophage se rencontrait seulement au cours de maladies à localisation intestinale (dysenterie, fièvre typhoïde, typhose aviaire, choléra des porcs, etc...), mais d'Hérelle l'a mis en évidence dans les déjections d'animaux atteints d'affections septicémiques (barbone des buffles, peste du rat) et d'autres auteurs depuis l'ont isolé de suppurations localisées (furoncles, anthrax). Dans des hémocultures pratiquées au cours de fièvres typhoïdes et restées stériles, Hauduroy a mis en évidence à plusieurs reprises la présence d'un bactériophage spécifique pour le bacille isolé des selles.

De toute façon l'apparition du bactériophage coïncide avec une amélioration notable de l'état clinique du malade. Il est difficile de ne pas voir entre ces deux faits une relation de cause à effet, du moment que l'on cons-

tate une véritable spécificité du bactériophage contre le germe pathogène isolé. Quelquefois, cependant, sa virulence s'étend, mais plus faiblement à d'autres races de la même espèce, dans tous les cas on peut essayer de l'adapter à ces dernières en lui faisant subir à leurs dépens un certain nombre de passages.

Indépendamment de tout état pathologique clinique décelable, on rencontre dans les selles d'individus normaux des bactériophages actifs contre diverses espèces microbiennes, plus particulièrement contre les colibacilles, les bacilles dysentériques et typhiques. Il y a tout lieu de croire que l'on est en présence de cas de guérison d'une infection bénigne et passée inaperçue.

Au cours d'une épidémie, les sujets indemnes présentent régulièrement dans leurs selles le bactériophage de l'agent pathogène en cause, aussi bien que les sujets convalescents. Ceci explique comment une épidémie morbide peut cesser par l'effet d'une autre épidémie, curative celle-ci, due au bactériophage. C'est ce qui a fait dire à d'Hérelle que « l'immunité est aussi contagieuse que la maladie », l'immunité en l'occurrence n'est autre chose que la résultante d'une maladie mortelle pour le microbe.

Comment se communique cette immunité d'un individu à l'autre ? Plusieurs auteurs (Hauduroy, Dumas) ont montré que le bactériophage se rencontre en dehors de l'organisme, dans la terre, dans l'eau des canalisations urbaines, dans les eaux d'égouts, et, d'une façon générale, dans tous les lieux susceptibles d'être souillés par des matières fécales. La propriété que possède le bacté-

riophage de traverser les filtres alors que les bactéries sont arrêtées, explique comment la consommation d'eau renfermant du bactériophage, même filtrée, peut suffire à vacciner des individus. Il y a tout lieu de croire qu'une épidémie à bactériophage se propage comme toute autre épidémie, l'eau paraissant être le facteur le plus important de dissémination des germes.

La constatation de la présence constante du bactériophage, dans le décours heureux de certaines maladies infectieuses, entraînait comme corollaire que l'introduction dans l'organisme infecté par un microbe d'un bactériophage spécifique devait amener la guérison. C'est ainsi que quelques auteurs ont essayé de faire entrer le bactériophage dans la thérapeutique de plusieurs maladies.

Nous résumerons brièvement les résultats qu'ils ont obtenus.

D'Hérelle, le premier, a expérimenté cette méthode dans la typhose aviaire et le barbone des buffles.

La typhose aviaire est une infection des gallinacés due au « *bactérium gallinarum* » ; d'Hérelle put isoler des déjections d'une poule guérie un bactériophage très actif contre cette bactérie. Le filtrat d'une culture lysée inoculé à raison de 0,5 cm³ par voie sous-cutanée à des poules atteintes de typhose, ou se trouvant en plein milieu épidémique, guérissait les malades et préservait les autres de toute atteinte, l'épizootie cessait dès lors brusquement.

Plus tard d'Hérelle se contentait de faire ingérer le bactériophage en l'ajoutant à la nourriture ou à la boisson des animaux et il obtenait d'ausi bons résultats.

Dans la septicémie hémorragique des buffles ou barbone, maladie mortelle dans 99 % des cas, d'Hérelle et Lelouet vaccinèrent efficacement à l'aide d'un bactériophage anti-barbone des buffles et des taurillons qui résistaient ensuite à l'inoculation de 1.000 doses mortelles du bacille du barbone.

Encouragé par ces résultats, d'Hérelle essaya le bactériophage en thérapeutique humaine ; il obtint avec la dysenterie bacillaire des succès remarquables. Tout récemment, MM. Philibert, Hauduroy et Cordey ont fait connaître les résultats intéressants qu'ils ont obtenus dans le traitement d'infections dues au coli-bacille (pyélo-néphrite et septicémie) et aux bacilles typhiques et paratyphiques.

Bruynoghe et Maisin, Hauduroy puis Bastin ont publié des cas de guérison de furonculose et d'anthrax obtenus par cette méthode. Nous ne décrirons pas leurs observations en détail, renvoyant le lecteur à la notice « bibliographique ».

Voici la technique de la vaccination par le bactériophage, telle qu'elle a été pratiquée par MM. Philibert, Hauduroy et Cordey :

- 1°. — Isoler le microbe de l'infection (Hémoculture, culture de l'urine, du pus, etc.) ;
- 2°. — Condition indispensable, le microbe isolé doit être lysé par une souche de bactériophage conservée au laboratoire (échecs observés dans les cas chroniques où les microbes se montrent presque toujours résistants à la lyse) ;

3°. — On fera pénétrer le bactériophage dans l'organisme, par voie sous-cutanée, mais en même temps, par voie buccale dans les infections intestinales, par voie vésicale dans l'infection des voies urinaires, en applications locales dans les affections cutanées ;

4°. — Les doses ne doivent pas être inférieures à 5 c/m c. par voie sous-cutanée, à 20 à 30 c/m c. par ingestion ou introduction dans la vessie ;

5°. — Dans certains cas, deux injections pratiquées à 24 h. d'intervalle ont donné des résultats alors que dans des cas analogues une seule injection n'avait produit aucun effet ;

6°. Eviter au cours du traitement de faire absorber au malade de la quinine sous toute ses formes.

Il apparaît donc qu'une injection unique ou deux injections rapprochées, d'un lysat de culture rendent l'organisme réfractaire à l'infection par le microbe non lysé (jusqu'à 1.000 doses mortelles), et que des injections répétées créent au contraire un état de sensibilité à l'infection par le même microbe ; le bactériophage se conduit comme un véritable antigène, c'est-à-dire que son introduction dans l'organisme y détermine la formation d'anti-corps ; le sérum anti-bactériophage renferme une sensibilisatrice spécifique de l'ultra-microbe (Bordet et Gengou, d'Hérelle et Eliava).

Cette technique, qui a donné jusqu'ici les meilleurs ré-

sultats, ne provoque aucune réaction inquiétante, une légère élévation thermique de 1° qui tombe en 48 h. et assez souvent une crise sudorale avec de la polyurie.

Cette nouvelle vaccinothérapie, qui paraît tout à fait inoffensive, mérite d'être connue et doit être utilisée sur une très grande échelle ; elle semble constituer à l'heure actuelle la plus logique et la plus rationnelle des thérapeutiques et est susceptible de s'étendre à un très grand nombre de maladies.

CHAPITRE V

Les Théories

Il restait à classer dans le cadre actuel de la microbiologie ce nouveau venu qu'est le bactériophage. De nombreux auteurs s'y sont appliqués, mais leurs théories, édifiées sur des expériences qui ne sont pas toujours exemptes de critiques, paraissent pour le moins incomplètes. Nous ne ferons que les signaler pour mémoire et sans entrer du tout dans leur discussion.

a) Théorie de d'Hérelle. — S'appuyant sur les faits signalés au début de cet ouvrage et en particulier sur l'action lytique indéfinie du bactériophage (en présence d'un microbe lysable) témoin de sa reproduction, sur ses facultés d'accoutumance et d'adaptation, d'autre part sur ses grandes variations de virulence, d'Hérelle affirme que le bactériophage est un être vivant, parasite interne et obligatoire des bactéries.

C'est l'hypothèse, la plus vraisemblable à l'heure actuelle et qui est admise par la plupart.

b) Théorie de *Salimbeni*. — *Salimbeni* attribue l'action de la lyse à un myxomycète qu'il parvint à isoler de certains tubes lysés et il rapproche le phénomène de d'Hérelle de certains faits étudiés par *Pinoy* (destruction du bacillus fluorecens par un myxo-mycète). Personne depuis n'a retrouvé ce parasite qui semble n'avoir été qu'une souillure accidentelle des cultures.

c) Théorie de *Kabeshima*. — Pour *Kabeshima*, il s'agit d'un ferment inanimé ou plutôt d'un proferment ou prodiastase contenu primitivement dans les corps microbiens qui digérerait ces derniers sous l'influence d'un catalyseur, produit de sécrétion des glandes intestinales. Il s'agirait en somme d'une autolyse microbienne provoquée par ce que l'auteur appelle « le ferment d'immunité bactériolysant ». *Kabeshima* s'appuyait sur les arguments suivants : 1° Le bactériophage garde son activité pendant 4 ans ; 2° la chaleur ne le détruit qu'à 75° (comme les ferments) ; 3° la poudre obtenue après précipitation par l'acétone conserve son pouvoir lytique ; 4° il résiste aux antiseptiques énergiques, acide phénique, fluorure de sodium, etc... ; 5° il ne se multiplie pas dans les milieux artificiels, stériles, mais seulement en présence d'une culture microbienne ; 6° il agit en quantité très faible sur une grande quantité de microbes.

Nous signalerons simplement à propos de cette théorie, que plusieurs faits signalés par *Kabeshima*, en particulier l'action de la chaleur et les propriétés des lysines obtenues par précipitation par l'acétone et l'alcool ont été depuis reconnues inexactes.

d) Théorie de *Bordet et Ciuca*. — Pour ces deux auteurs il s'agirait de propriétés nouvelles que les microbes acquerraient sous l'influence de l'exsudat leucocytaire (intestinal ou péritonéal) ; en l'espèce, ces propriétés consisteraient en une tendance à l'autolyse et seraient susceptibles de se transmettre héréditairement par l'intermédiaire des races non lysables mais lysogènes (individus porteurs de germes).

e) Théorie de *Lisbonne-Carrère*. — Toute leur théorie, la plus récente repose sur l'action antagoniste de certaines races microbiennes. On en a plusieurs exemples en bactériologie (pyocyanase et bactéridie charbonneuse, etc...), mais les expériences de ces auteurs ont été répétées sans résultat par plusieurs expérimentateurs (*Beckerich et Hauduroy*, puis *Hauduroy*).

La lyse microbienne observée quelquefois ne semble pas se reproduire indéfiniment en série.

CHAPITRE VI

Bactériophage et bactéridie charbonneuse.

- Vaccine et bactériophage. - Le bactériophage saprophyte.

- Adsorption du bactériophage par les corps inertes

Bactériophage et bactéridie charbonneuse. — Pendant une année et plus, consacrée à l'étude du bactériophage de d'Hérelle, nous avons pu reproduire les expériences et vérifier la plupart des faits décrits dans ce court exposé.

D'autre part, avec MM. Philibert, Haüduroy et Cordey, nous avons pu constater cliniquement et bactériologiquement les résultats thérapeutiques obtenus avec le bactériophage. Nous nous excusons de n'avoir pas pu personnellement apporter à la connaissance du bactériophage une contribution très efficace, le temps nous presse et des recherches de cette nature exigent une très longue expérimentation.

Nous exposerons simplement d'abord le résultat des essais d'adaptation que nous avons faits, d'un bactériophage anti-coli à la bactéridie charbonneuse.

Nous nous empressons de dire que si nous avons eu quelques résultats in-vitro, nous avons échoué dans nos essais thérapeutiques.

Nous sommes partis d'une souche de bactériophage de d'Hérelle très active contre une race de colibacille et de trois souches de bactéridie charbonneuse de laboratoire. Nous avons vérifié les unes et les autres et avons entrepris, par des passages successifs, d'adapter le bactériophage anti-coli à la bactéridie.

Expérience

A partir des trois cultures sur gélose inclinée de charbon, âgées de 24 heures, nous avonsensemencé avec des quantités sensiblement égales, 6 tubes de bouillon (2 pour chaque culture) ; à un tube de chaque espèce nous avons ajouté 10 gouttes du filtrat d'une culture de coli complètement lysée, les trois autres tubes étant conservés comme témoins ; après 24 heures d'étuve à 37° nous avons observé dans les tubes témoins : voile en surface, dépôt dans le fond, liquide clair. A l'examen microscopique, longs filaments enchevêtrés, formés d'un grand nombre d'éléments trapus, Gram positif (aspect normal des cultures de charbon). L'examen des tubes qui avaient reçu du bactériophage a montré un liquide trouble avec voile à la surface et dépôt au fond. Au microscope on voyait des éléments de charbon typiques mais rares, les filaments ne comptaient pas plus de deux à trois éléments ; certains étaient déformés, renflés en massue, épaissis, d'autres étaient plus fins, plus longs que les éléments normaux, prenant mal le Gram et présentant des granulations. Ensemencées sur plusieurs tubes de gélose ordinaire incli-

née, avec fil de platine (sans rechercher afin d'avoir des colonies isolées), ces cultures modifiées ont poussé en donnant des colonies normales de charbon ; il y avait bien cependant destruction partielle de bactéries ; nous avons par ailleurs vérifié qu'un filtrat de culture de colibacille ne produisait aucune modification sur les cultures de charbon ; plusieurs passages effectués aux dépens du charbon ne nous ont jamais donné de résultats plus complets, même en prenant la précaution de neutraliser chimiquement l'acidité développée dans le milieu par la culture, susceptible de gêner l'action du bactériophage. La filtration de ces cultures nous donnait un liquide qui conservait tout son pouvoir lytique vis-à-vis du colibacille. Ayant opéré en milieu solide (gélose inclinée) nous avons observé de semblables modifications dans les cultures ; les tubesensemencés avec une émulsion jeune de charbon additionnée de bactériophage, présentaient des colonies fines et moins opaques que les tubes témoins, mais toutefois de formes régulières, et l'examen microscopique y révélait les mêmes formes anormales atypiques que nous avons rencontrées dans les cultures en milieu liquide. Il est donc certain que nous avons un bactériophage virulent contre le charbon. Ces colonies bactériophagées repiquées nous ont toujours donné des cultures normales. Nous n'avons pas pu obtenir les colonies gélatineuses signalées pour le coli et autres espèces lysables et conservant pendant plusieurs générations leurs caractères ; cela tient sans doute à l'apparition de très bonne heure dans les cultures des spores qui sont les formes résistantes de la bactériodicarbonneuse et contre lesquelles le bactériophage s'est mon-

tré tout à fait inactif. Il y aurait lieu de renouveler ces expériences avec des cultures de charbon asporulé.

Nous avons voulu essayer toutefois si cette action partielle, mais réelle du bactériophage contre une culture de charbon jeune ne suffirait pas à préserver de l'infection des animaux inoculés avec la bactériodie. Voici comment nous avons procédé : nous avons inoculé trois cobayes ($\frac{1}{2}$ cm. d'une émulsion légère en eau physiologique d'une culture de charbon âgée de 24 heures, sous la peau du flanc) ; à deux des animaux nous avons injecté respectivement 1 cm³ et 2 cm³ de bactériophage, le troisième animal gardé comme témoin. Les trois cobayes moururent au bout de 48 heures environ. A l'autopsie, le cobaye témoin présentait, au point d'inoculation, un œdème gélatiniforme, le foie était gros, rien autre à signaler ; les cobayes qui avaient reçu en même temps du bactériophage, présentaient un œdème plus étendu qui occupait toute la paroi abdominale et thoracique du côté inoculé ; nous avons fait pour chacun des cobayes des ensemencements du sang du cœur et de la sérosité de l'œdème, et au bout de 24 heures d'étuve nous avons partout des cultures de bactériodie charbonneuse ; d'autre part, après avoir dilué dans du bouillon la sérosité et le sang prélevé par ponction du cœur, nous avons filtré et recherché si le bactériophage injecté s'y retrouvait : le filtrat mis en présence du colibacille ne détermina aucune lyse ; il n'y avait donc pas de bactériophage ni dans l'œdème de l'inoculation, ni dans le sang. Nous ne l'avons pas recherché dans les déjections des animaux. D'autre part, la bactériodie charbon-

neuse isolée n'était pas non plus lysogène pour le colibacille.

Continuant nos expérimentations sur la bactéridie charbonneuse, il nous est venu à l'idée de rechercher si la vaccination anti-charbonneuse n'engendrait pas in-vivo la formation d'un produit lytique vis-à-vis de la bactéridie, d'un bactériophage.

La vaccination se pratique en deux temps ; deux inoculations à 12 jours d'intervalle de cultures de charbon atténuées par la chaleur, mais de virulence croissante (méthode de Pasteur) ; les inoculations se font en frottant à l'aide d'un tampon de coton imbibé de vaccin la peau du flanc préalablement épilée et légèrement irritée par raclage.

Nous avons fait subir à 8 cobayes la première vaccination et de jour en jour nous avons prélevé des déjections qui, après incubation avec du bouillon ont été filtrées ; le filtrat mis en présence de cultures jeunes de charbon n'a jamais produit de lyse. Trois des cobayes moururent au bout de trois jours, sans lésion apparente et l'ensemencement du sang n'y montra pas la présence de bactéridies. Les cinq cobayes survivants reçurent 12 jours plus tard la deuxième inoculation. Comme pour les premiers nous avons recherché systématiquement dans les déjections un bactériophage. Nous ne l'avons pas trouvé ; il faut dire qu'aucun des animaux ne résista à cette deuxième épreuve. Trois jours après, deux cobayes mouraient et deux jours plus tard les trois derniers. Aucun d'eux ne présentait dans son sang de bactéridie charbonneuse.

Nous n'avons pas renouvelé l'expérience, mais il nous

semble qu'elle vaut la peine d'être recommencée, et il serait intéressant de constater chez un animal vacciné et capable de résister à l'inoculation d'une dose de charbon mortelle pour un animal témoin, si cette immunité est due au bactériophage spécifique.

Ceci se vérifie pour d'autres espèces microbiennes : un lapin qui a reçu une inoculation intra-péritonéale d'une culture de coli-b. et qui a résisté à cette infection a, dans ses déjections, un bactériophage virulent contre le colibacille inoculé. Il est bien entendu que l'on a vérifié que le bactériophage ne préexistait pas à l'inoculation dans les déjections du lapin. Il faut conclure que le bactériophage n'apparaît que dans l'organisme infecté par un germe microbien vivant et seulement dans les cas favorables où cet organisme se défend victorieusement, ce qui constitue au fond un cercle vicieux si l'on admet que la guérison n'est que le résultat de l'intervention du bactériophage.

Vaccine et bactériophage. — Nous avons entrepris de répéter les expériences de Twort pour voir s'il existe une parenté entre le phénomène de d'Hérelle et celui de Twort signalé plus haut (chapitre 1^{er}). Nous avons à plusieurs reprises pratiqué des ensemencements de pulpe vaccinale glycinée ; nous avons obtenu des cultures d'un staphylocoque blanc, mais nous n'avons jamais observé les modifications signalées par l'auteur dans les cultures de ce microcoque. Nous avons retrouvé ce dernier dans la pustule vaccinale d'un lapin inoculé dans la cornée après scarifications. Cultivé, ce staphylocoque nous a donné pen-

dant plusieurs générations des cultures tout à fait normales. Nous avons d'autre part mis des filtrats de vaccine de diverses provenances en présence de cultures jeunes de plusieurs races de staphylocoques blancs, mais nous n'avons jamais observé la présence d'un principe lytique.

Le bactériophage saprophyte. — Intrigué au cours de nos recherches par la persistance du bactériophage malgré de nombreux passages sur des microbes non lysables, il nous a paru intéressant de vérifier jusqu'à quel point était fondée cette assertion de d'Hérelle que l'ultra-microbe bactériophage ne pouvait se développer absolument qu'en parasite, autrement dit, qu'aux dépens d'un microbe qu'il était susceptible de lyser. Nous avons cherché si cet être vivant ne pouvait pas s'adapter à un mode d'existence simplement saprophytaire, de même que nous l'avons vu s'accoutumer à certains milieux qui lui étaient primitivement funestes. Nous avons, poursuivant ce but, fait quelques expériences qui nous ont paru montrer que le bactériophage dans certains cas était susceptible de vivre et de se développer en symbiose avec des microbes sur lesquels, dans la mesure où nos moyens d'observation permettent de l'affirmer, il était sans action. Nous avons procédé comme suit : partant de deux cultures de charbon et de staphylocoque blanc (souches de laboratoire), nous avons vérifié qu'une souche de bactériophage très active contre un colibacille était sans action sur leur développement et qu'après 24 heures d'étuve, les tubes de charbon et de staphylocoqueensemencés avec le bactériophage donnaient en bouillon une culture aussi abondante que les tubes témoins, et ne présentaient aucune plaque après étalement

sur gélose inclinée. Nous nous sommes également assuré que ni le charbon, ni le staphylocoque n'étaient lysogènes pour le coli. Nous avonsensemencé le premier jour le charbon en tubes de bouillon en y ajoutant 2 gouttes de bactériophage anti-coli. Au bout de 24 heures, nous avons filtré cette culture renfermant du bactériophage et nous avons vérifié que 2 gouttes de filtrat ajoutées à une culture jeune de coli la lysait d'une façon parfaite ; deux autres gouttes du même filtrat furent ajoutées à une nouvelle culture de charbon. Le lendemain le filtrat de cette dernière montra encore par son action sur le coli-b. qu'il renfermait toujours du bactériophage, il en fut ainsi jusqu'au 12° passage. L'expérience pratiquée en même temps avec le staphylocoque blanc nous a donné sensiblement les mêmes résultats. Simultanément nous faisons des passages équivalents du bactériophage sur bouillon simple pour noter à quel moment, du fait de la dilution, il perdait son pouvoir lytique. Au 5° passage (2 gouttes du 1^{er} tube dans le 2°, etc...), le coli poussait aussi abondamment que dans le tube témoin. Aucune lyse ne se produisait plus.

Nous avons remarqué, au cours de ces expériences, des intermittences dans le phénomène de la lyse. A deux reprises, au 6° et au 10° passages, après 24 heures d'étuve, nous n'avons pas observé la clarification des cultures du coli qui réapparaissait cependant très nette les jours suivants. Nous ne nous expliquons pas ces arrêts momentanés dans la lyse, observés d'ailleurs en d'autres circonstances. Toutefois, la virulence du bactériophage nous a paru aller en s'atténuant au fur et à mesure de ces passa-

ges, la culture de coli qui recevait le filtrat étant chaque jour plus abondante. Nous devons ajouter que l'expérience répétée dans les mêmes conditions, mais avec des souches de bactériophage et de microbes différentes, nous a donné un résultat négatif (Bactériophage anti-Shiga et staphylocoque doré).

Quoi qu'il en soit, nous avons observé au moins à deux reprises que le bactériophage a pu se multiplier en présence d'une culture de charbon et de staphylocoque contre lesquels il ne manifestait aucun pouvoir lytique ; il y a là un phénomène de symbiose qu'il est intéressant de noter. En milieu stérile cette reproduction n'a jamais été observée.

Adsorption du bactériophage par les corps inertes. — L'adsorption est le pouvoir que possèdent les virus filtrants et les toxines microbiennes d'adhérer à des corpuscules de très petite dimension mis en suspension dans les liquides qui les supportent.

Assimilant le bactériophage aux virus filtrants, à cause d'une grande analogie de propriétés, nous avons recherché si comme eux il était susceptible d'être adsorbé par des corps inertes.

De la terre d'infusoires stérilisée par un séjour de 20 minutes à l'autoclave à 120° est mise dans un tube de bouillon stérile ; on ajoute 20 gouttes de bactériophage anti-coli et on laisse en contact quelques instants. On centrifuge ensuite pendant 10 minutes à 3.000 tours. On décante le liquide surnageant que l'on remplace par de l'eau physiologique ; on agite, on centrifuge de nouveau ; nous avons répété cette opération cinq fois. Le liquide du

dernier lavage mis en présence d'une culture jeune du coli-lysable, produit une lyse très imparfaite. Le culot, après décantation, ensemencé dans une émulsion jeune du même coli, en détermine la lyse complète.

Nous avons répété l'expérience en remplaçant la terre d'infusoire par des corps microbiens tués (staphylocoque doré) et en utilisant une souche du bactériophage anti-Shiga. Nous les avons laissés en contact 24 heures à l'étuve à 37° ; après 4 lavages pratiqués comme nous l'avons indiqué plus haut, nous avons observé ceci : le liquide du dernier lavage et le culot, ensemencés respectivement sur deux tubes de cultures jeunes en bouillon de b. de Shiga en déterminèrent la lyse, mais le lysat, obtenu à l'aide du liquide, ensemencé sur gélose inclinée, donnait de nombreuses colonies de b. de Shiga tout à fait normaux, alors que le lysat obtenu à l'aide du culot de centrifugation se montra absolument stérile. Dans ces deux expériences le bactériophage avait été fixé : dans le premier cas par la terre d'infusoire, par les corps microbiens dans le second. Ce phénomène d'adsorption du bactériophage a déjà été signalé avec le noir animal. Il est à rapprocher de faits semblables observés avec les virus filtrants et les toxines microbiennes. Nous nous proposons d'étudier par la suite l'adsorption du bactériophage par les hématies. Si cette adsorption se produit, comme cela a été montré pour le virus aphteux, le bactériophage ainsi fixé sur des éléments figurés est sans doute susceptible d'une phagocytose totale si on l'inocule à un animal par voie intraveineuse. Si donc on voulait ex-

périmenter un vaccin mixte (corps microbiens tués plus bactériophages), la vaccination par voie sous-cutanée resterait la méthode de choix.

Conclusions

Nous ne rappellerons que pour mémoire les échecs obtenus dans la recherche du principe lytique de la bactériodie charbonneuse et dans nos essais de vaccination par le bactériophage anti-charbonneux.

De même, le phénomène de Twort nous a paru d'une grande inconstance, puisque nous n'avons pas pu le mettre en évidence, bien que nous l'ayons cherché à plusieurs reprises.

Nous avons noté ce fait très instructif que le bactériophage semble pouvoir, dans certaines circonstances, vivre en symbiose avec des microbes sur lesquels il n'a aucun pouvoir lytique, ce qui permet d'admettre sa présence constante dans l'organisme sain, mais à l'état latent, sa virulence n'apparaissant qu'au moment de l'introduction d'un microbe pathogène. Quoi qu'il en soit, indépendamment de toute lyse, la présence de microbes vivants est nécessaire à la reproduction du bactériophage. La vitalité et la virulence de ce dernier semblent être fonctions de la quantité et de la qualité des sécrétions microbiennes.

Le bactériophage est adsorbé par certains corps inertes, tels que la terre d'infusoires et les corps microbiens

tués. Il peut être assimilé en cela aux virus filtrants et aux toxines microbiennes, dont il se rapproche d'ailleurs par plusieurs autres de ses propriétés (invisibilité, filtrabilité, etc...).

Nous faisons remarquer que l'expérimentation du bactériophage a été faite jusqu'ici presque uniquement in-vitro et que l'on n'a pas le droit de tirer de ces observations des conclusions trop absolues touchant le mode d'action du bactériophage dans un organisme animal où de multiples autres éléments sont en jeu. On peut considérer le bactériophage comme un être vivant, pouvant devenir, dans certaines conditions, un véritable agent de mort des organismes microbiens.

Il existe donc une immunité et des maladies des microbes au même titre qu'il y a une immunité et des maladies humaines et animales. On descend seulement d'un degré dans l'ordre de grandeur des êtres en présence.

Notre état de santé ou de maladie n'est en définitive bien souvent que l'épilogue de la lutte qui se livre en nous, entre le microbe et l'ultra-microbe.

Ces faits, d'un intérêt incontestable, montrent tout ce qu'on est en droit d'attendre du bactériophage de d'Hérelle, autant pour la prophylaxie que pour la thérapeutique des maladies microbiennes.

Vu le Doyen, *Vu le Président,*
ROGER. BEZANÇON.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

APPELL.

TRAVAUX

**concernant le Bactériophage de d'Hérelle
parus jusqu'en Mai 1923**

Revue Générale

AMEUILLE. — Le B. de d'Hérelle. — *Annales de Médecine*, T. IX, n° 3, p. 197-207, mars 1921.

BECKERICH et HAUDUROY. — Le B. de d'Hérelle. Son rôle dans l'immunité, ses applications thérapeutiques. — *Le Médecin d'Alsace et de Lorraine*, 1922.

Biologie Médicale, n° 8, avril-mai 1921, p. 319-332.

Bulletin Institut Pasteur, 1921-22. Analyse des mémoires.

DAMADE. — Etude d'une épidémie de dysenterie bacillaire. — Thèse Bordeaux, août 1919, ch. VI, p. 80-81.

D'HÉRELLE. — Le B. Son rôle dans l'immunité. — *Presse Médicale*, n° 47, p. 463-464, 11 juin 1921.

D'HÉRELLE. — Le B. Son rôle dans l'immunité. — *Masson* 1921, Coll. des monographies de l'I. P., 227 P.

THÉVENOT. — Le bacille bactériophage de d'Hérelle. — *Journal de médecine de Lyon*, 5 mars 1921.

1917 D'HÉRELLE. — Sur un microbe invisible antagoniste des dysentériques. — *C. R. Acad. Sc.*, t. 165, p. 373-75, 10 sept.

1918 D'HÉRELLE. — Technique de la recherche du microbe filtrant bactériophage. — Bactériophagum intestinale, C. R. Soc. Biol., p. 1160-62, 7 déc.

D'HÉRELLE. — Sur le rôle du microbe filtrant bactériophage dans la dysenterie bacillaire. — C. R. Acad. Sc. T. 167, p. 970-972, 9 décembre.

1919 D'HÉRELLE. — Du rôle du microbe filtrant B. dans la fièvre typhoïde. — C. R. Acad. Sc., T. 168, p. 631-634, 2 mars.

— Sur une épizootie de typhose aviaire. — Ibid, T. 169, p. 817-819, 3 novembre.

— Sur le rôle du B. dans la typhose aviaire. — Ibid, p. 932-934, 17 novembre.

KABESHIMA. — Recherches expérimentales sur la vaccination préventive contre le B. dys. de Shiga. — C. R. Acad. Sc., T. 169, p. 1061-1064, 1^{er} décembre.

D'HÉRELLE. — Sur le microbe bactériophage. — C. R. Soc. Biol., p. 1237-39, 29 nov.

1920 KABESHIMA. — Thérapie expérimentale des porteurs de germes. — C. R. Acad. Sc., T. 170, p. 71-72, 5 janvier.

D'HÉRELLE. — Les processus de défense contre les bacilles intestinaux et l'étiologie des maladies d'origine intestinale. — C. R. Acad. Sc., t. 170, p. 72-75, 5 janvier.

— Sur la culture du microbe bactériophage. — C. R. Soc. Biol., p. 52-53, 24 janvier.

— Sur la résistance des bactéries à l'action du microbe bactériophage. — C. R. Soc. Biol., p. 97-99, 31 janvier.

KABESHIMA. — Sur un ferment d'immunité bactériolyse ; du mécanisme d'immunité des maladies infectieuses intestinales de la nature du dit « mi-

- crobe filtrant bactériophage » de d'Hérelle. —
C. R. Soc. Biol., p. 219-222, 28 février.
- D'HÉRELLE. — Sur le microbe bactériophage. — C. R.
Soc. Biol., p. 247-249, 6 mars.
- KABESHIMA. — Sur le ferment d'immunité bactérioly-
sant. — C. R. Soc. Biol., p. 471-73, 17 avril.
- MÉTALNIKOW. — Bacille dys. et bactériophage de d'Hé-
relle chez les chenilles de *Galleria Mellonella*. —
— C. R. Soc. bio., p. 667-668, 8 mai.
- BORDET et CIUCA. — Exsudats leucocytaires et autolyse
microbienne transmissible. — C. R. Soc. biol.,
p. 1293-95, 9 octobre.
- Le bactériophage de d'Hérelle. Sa production et
son interprétation. — Ibid, p. 1296-1298.
- DUMAS. — Sur la présence du bactériophage dans l'in-
testin, dans la terre et dans l'eau. — C. R. Soc.
biol., p. 1314-15, 20 octobre.
- D'HÉRELLE. — Sur le microbe bactériophage. — C. R.
Soc. biologie, p. 1318-19, 23 oct.
- Sur la nature du principe bactériophage. — Ibid,
p. 1320-22.
- BABLET. — Sur le principe bactériophage de d'Hérelle.
Ibid, p. 1322-24.
- DEBRÉ et HAGUENAU. — Quelques particularités sur le
« phénomène de d'Hérelle », C. R. Soc. Biol., p.
1348-49, 30 oct.
- Quelques particularités du « phénomène de d'Hé-
relle ». — Ibid, p. 1368.
- WOLLMANN. — A propos de la note de MM. Bordet et Ci-
uca. — Phénomène de d'Hérelle, autolyse micro-
bienne transmissible et hypothèse de la pangé-
nèse de Darwin. — C. R. Soc. biol., p. 1478-79,
27 novembre.

SALIMBENI. — Sur la nature du bactériophage de d'Hérelle. — C. R. Acad. Sc., T. 171, p. 1240-42, 13 décembre.

1921 D'HÉRELLE. — Le microbe bactériophage agent d'immunité dans la peste et le barbone. — C. R. Acad. Sc., T. 172, p. 99-100, 3 janvier.

WOLLMANN. — Sur le phénomène de d'Hérelle. — C. R. Soc. biol., T. 84, p. 3-5, 8 janvier.

GRATIA. — Influence de la réaction du milieu sur l'autolyse microbienne transmissible. — C. R. Soc. biol., p. 275-76, 29 janvier.

BORDET et CIUCA. — Déterminisme de l'autolyse microbienne transmissible. — Ibid, p. 276-78.

— Spécificité de l'autolyse microbienne transmissible. — Ibid, p. 278-79.

— Autolyse microbienne et sérum antilytique. — Ibid, p. 280-282.

D'HÉRELLE. — Sur la nature du bactériophage (Bactériophagum intestinale de d'Hérelle). — C. R. Soc. biol., p. 339-340, 19 février.

— Phénomènes coïncidant avec l'acquisition de la résistance des bactéries à l'action du bactériophage. — C. R. Soc. biol., p. 384-386, 26 février.

MAISIN. — Au sujet de la nature du principe bactériophage. — Soc. Biol., p. 467-468, 26 février.

— Adaptation du bactériophage. — Ibid., p. 469-70.

D'HÉRELLE. — Rôle du bactériophage dans l'immunité. — Soc. Biol., p. 538-540, 19 mars.

ELIAVA et POZERSKI. — Sur les caractères nouveaux présentés par le bacille de Shiga ayant résisté à l'action du bactériophage de d'Hérelle. — Soc. Biol., p. 708-709, 23 avril.

D'HÉRELLE et ELIAVA. — Sur le sérum anti bactériophage. — Soc. biol., 719-721, 23 avril.

BORDET et CIUCA. — Remarques sur l'historique des recherches concernant la lyse microbienne transmissible. — Soc. biol., 745-747, 26 mars.

— Evolution des cultures du coli lysogène. — Ibid, p. 747-748.

— Guérison et retour à l'état primitif par le sérum antilytique du coli lysogène. — Ibid, p. 748-50.

GRATIA. — De l'adaptation héréditaire du colib. à l'autolyse microbienne transmissible. — Ibid, p. 750-751.

— Dissociation d'une souche de colibacille en 2. types d'individus de propriétés et de virulence différentes. — Ibid, p. 751-753.

— De la signification des colonies de bactériophage de d'Hérelle. — Ibid, p. 753-754.

— Sur la spécificité du principe lytique. — Ibid, p. 755.

MAISIN. — Au sujet du principe lytique et des anticorps. — Ibid, p. 755-756.

BRUYNOCHE et MAISIN. — Au sujet des microbes devenus résistants au principe bactériophage. — Soc. biol., 847-48, 30 avril.

D'HÉRELLE. — Sur l'historique du bactériophage. — Soc. biol., p. 863-864, 14 mai.

— Sur la nature du bactériophage. — Ibid, p. 908-909, 21 mai.

BRUYNOCHE. — Au sujet de la guérison des germes devenus résistants au principe bactériophage. — Soc. Biol., T. 85, p. 20-23, 28 mai.

GRATIA. — L'autolyse transmissible du staphylocoque et l'action coagulante des cultures lysées. — Ibid. 25-26.

ELIAVA et POZERSKI. — De l'action destructrice des sels de quinine sur le bactériophage de d'Hérelle. — Soc. biol., p. 139-141, 25 juin.

- GRATIA. — Autolyse transmissible et variation microbiennes. — Soc. biol., p. 251-252, 25 juin.
- BRUYNOGHE. — Au sujet de la nature du principe bactériophage. — Ibid, p. 258-260.
- BOTÉZ. — La bactériolyse en série par le violet de méthyle. — Soc. biol., p. 558-586.
- D'HÉRELLE et ELIAVA. — Unicité du bactériophage. Sur la lysine du Bactériophage. — Biol., p. 701-702, 22 oct.
- APPELMANNS. — Le bactériophage dans l'organisme. — Ibid, p. 722-24.
- DE NECKER. — Au sujet de l'action inhibitrice du principe bactériophage sur le développement du microbe réceptif. — Ibid, 742-744.
- D'HÉRELLE. — L'ultra microbe bactériophage. — Biol., p. 767-768, 29 octobre.
- WOLLMANN et GOLDENBERG. — Le phénomène de d'Hérelle et la réaction de fixation. — Ibid, p. 772-774.
- GRATIA et JAUMAIN. — Identité du phénomène de Tiwort et du phénomène de d'Hérelle. — Biol., p. 880-81, 12 nov.
- Dualité du principe lytique du colibacille et du staphylocoque. — Ibid, p. 882-884.
- D'HÉRELLE et POZERSKI. — Action de la température sur le bactériophage. — Biol., p. 1011-13, 13 décembre.
- BORDET et CIUCA. — Sur la régénération du principe actif dans l'autolyse microbienne. — Soc. biol., p. 1095-97, 10 décembre.
- APPELMANNS. — Le dosage du bactériophage. — Soc. biol., p. 1098-99.
- BRUYNOGHE et MAISIN. — Le principe bactériophage du staphylocoque. — Ibid, p. 1118-20.

- Essai de thérapeutique au moyen du bactériophage staphylocoque. — Ibid, p. 1020-21.
- Au sujet de l'unité du principe bactériophage. — Ibid, p. 1122-24.
- 1922 BECKERICH et HAUDÜROY. — Au sujet du titrage du bactériophage. — Soc. biol., p. 165-167, 21 janvier.
- Le bactériophagisme dans le traitement de la fièvre typhoïde. — Ibid, 168-170.
- GRATIA. — La lyse transmissible du staphylocoque. Sa production. Ses applications thérapeutiques. — Biol., p. 176-178, 4 février.
- BRUYNOGHE et MAISIN. — Le phagocytose du bactériophage. — Biol., p. 292-296.
- Au sujet de la réaction consécutive à l'injection du bactériophage. — Ibid, p. 294-295.
- LISBONNE, BOULET et CARRÈRE. — Sur l'obtention du principe bactériophage au moyen d'exsudats leucocytaires in vitro. — Biol, p. 340-342, 18 février.
- D'HÉRELLE. — Sur les autolysines d'origine bactérienne. Ibid, p. 360-361.
- GRATIA. — La lyse transmissible du staphylocoque et ses applications thérapeutiques. — *Bulletin Acad. Roy. Méd. belge*, p. 72-86, 25 février.
- D'HÉRELLE. — Sur la présence du bactériophage dans les leucocytes. — Biol., p. 477-478, 4 mars.
- BERGSTRAND. — Sur la lyse microbienne transmissible, p. 489-491.
- Sur la variation des bactéries, p. 492-494.
- APPELMANN. — Quelques applications de la méthode de dosage du bactériophage. — Ibid, p. 508-509.
- GRATIA et JAUMAIN. — Au sujet des réactions consécutives aux injections de principes lytiques staphylococciques. — Ibid, p. 519-520.

LISBONNE et CARRÈRE. — Antagonisme microbien et lyse transmissible du bacille de Shiga. — Biol., p. 569-570, 18 mars.

J. BORDET et CIUCA. — C. R. Soc. biol., 4 février 1922.

— Sur la théorie du virus dans la lyse microbienne transmissible et les conditions de régénération du principe actif. — C. R. biol. belge, 28 janvier 1922, p. 295.

SALDANHA. — Phénomène de d'Hérelle. — Soc. biol., p. 623-624.

D'HÉRELLE. — Sur la prétendue production d'un principe lytique sous l'influence d'un antagonisme microbien. — C. R. Soc. biol., p. 663-665, 25 mars.

DE NECKER. — De l'influence de la chaleur sur le principe bactériophage. — C. R. Soc. biol., p. 636-637, 1^{er} avril.

APPELMANN et WAGEMANS. — Bactériophages de diverses provenances. — Ibid, p. 738-739.

BRUYNOGHE et MAISIN. — Réponse à la note de Gratia et Jaumain relative aux réactions produites par injection de bactériophage. — Ibid, p. 739-740.

WEINBERG et AZENAR. — Autobactériolysines et le phénomène de d'Hérelle. — Biol., p. 833-834, 29 avril.

BECKERICH et HAUDUROY. — Au sujet de l'obtention du bactériophage par l'antagonisme microbien. — Ibid, p. 881-882.

PICO. — Sur la nature du principe bactériophage de Twort d'Hérelle. — Ibid, p. 1106-1108, 20 mai.

BACHMANN et AQUINO. — Sur le bactériophage. — Ibid., p. 1108-1109.

COMBIESCO. — Sur le phénomène de d'Hérelle. — Soc. de biol., Tome 87, p. 17-19, 3 Juin.

- BRUYNOGHE et APPELMANS. — La neutralisation des bactériophages de provenances différentes. *Ibid* 96-99, 10 juin.
- GRATIA et JAUMAIN. — Réaction de fixation de l'alexine et spécificité antigénique des principes lytiques. — *Ibid*, p. 99-101.
- WEINBERG et AZENAR. — Quelques faits nouveaux sur les autobactériolysines. — *Soc. biol.*, p. 136-138, 17 juin.
- BORDET et CIUCA. — Variations d'énergie du principe actif dans l'autolyse microbienne transmissible. — *C. R. biol. belge*, p. 366-369, 24 juin 22.
- PAUL FABRY. — Autolyse microbienne transmissible obtenue par antagonisme microbien. — *Ibid*, p. 369-371.
- D'HÉRELLE. — Le bactériophage. Son rôle dans l'immunité. — *Presse médicale*, 11 juin 1921.
- BRUYNOGHE. — Le bactériophage, brochure, 29 p.
— Le principe bactériophage. — *Revue des questions scientifiques*, juillet 1921.
- MAISIN. — Les bactériophages. — *Arch. Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*. Vol. 26, p. 3-4.
- BORDET et CIUCA. — Variations d'énergie du principe actif dans l'autolyse microbienne transmissible — *Biol.*, 1922, 4 juin.
- D'HÉRELLE. — Sur une cause d'erreur pouvant intervenir dans l'étude du bactériophage. — *Soc. biol.*, 1922, 22 juillet, p. 665.
- PICO. — Précédents historiques sur la lyse microbienne transmissible. — *Biol.*, tome 87, p. 685.
- PICO. — Le principe lytique est-il contenu dans les bactéries ? — *Ibid*, p. 687.

GRATIA et MARCEL DE NAMUR. — Individualité des principes lytiques staphylococciques de provenances différentes. — Biol., p. 364, 24 juin 1922.

JAUMAIN et Mlle MEULEMANS. — Absorption du principe lytique par les microbes tués. — Biol., p. 362, 24 juin 1922.

HAUDUROY. — De l'action du sérum antidysentérique sur la lyse du bacille de Shiga par le bactériophage de d'Hérelle. — Ibid. p. 966, 28 oct. 1922.

— Sur les lysines du bactériophage de d'Hérelle. — Ibid. p. 964.

BORDET. — Obtention des principes de faibles puissances dans l'autolyse microbienne transmissible. — C. R. Biol. Belge, p. 987, 1922.

LISBONNE et CARRÈRE. — Sur l'obtention du principe bactériophage par antagonisme microbien. — Biol., 4 nov. 1922, tome 87, p. 1011.

HAUDUROY. — Influence du chauffage sur le bactériophage de d'Hérelle. — Biol., 18 novembre 1922, tome 87, p. 1089.

HAUDUROY et BECKÉRICH. — A propos de l'obtention du bactériophage par antagonisme microbien. Réponse à MM. Lisbonne et Carrère. — Biol. 1922.

WOLFF (L. K.) et JANGER (J. W.). — Action des divers antiseptiques sur le bactériophage de d'Hérelle. — Biol., 18 novembre 1922, p. 1087.

A. BASTIN. — Le phénomène de d'Hérelle considéré dans ses rapports avec la biol. générale, la pathogénie, la prophylaxie et la thérapeutique des infections. — Thèse de Lille 1922.

PHILIBERT. — Le principe bactériophage (Phénomène de d'Hérelle). — Collection de travaux de la Société de Pathologie comparée, 1922.

TCHANG KNO NGEN et J. WANGEMANS. — Résistance du bactériophage à la chaleur. — C. R. Biol. 1922. p. 1253.

WAGEMANS. — Au sujet de la constitution du bactériophage. — C. R. Soc. biol., 1922, p. 1245.

DE NECKER. — De l'absorption du bactériophage par les colloïdes. — C. R. biol., 12 décembre 1922, p. 1247.

IBOR NASHENOV. — Sur les particularités de quelques souches de bactériophage. — C. R. Soc. biol., 1922, p. 1341.

— L'accoutumance du bactériophage. — Ibid, p. 1343.

I. DA COSTA CRUZ. — Sur la lyse microbienne transmissible. *Memor. Inst. Oswaldo Cruz*, T. XIV, p. 104-106. Texte français, p. 81-93, 1922.

PICO. — Autolyse transmissible du bactériophage sans intervention de l'hypothétique virus bactériophage. — C. R. biol., 1922, p. 836.

HAUDUROY. — Sur la constitution du bactériophage de d'Hérelle. — C. R. biol., 1923, p. 59.

CIUCA. — Présence de principe lytique pour le bacille de Shiga et le colibacille dans des selles de cholériques. — C. R. Soc. biol., 1923, p. 143.

TEHANG KNO NGEN et J. WAGEMANS. — Résistance des Bactériophages à la chaleur. — C. R. S. biol., 1923, p. 303.

WAGEMANS. — La neutralisation des bactériophages. — C. R. Soc. biol., 1923, p. 304.

A. GRATIA et LOÏS DE KRUIF. — Au sujet de la titration du bactériophage. — C. R. Soc. biol., 1923, p.

PEYRE. — Le bactériophage. — *Progrès Médical* 1923, n° 5.

GRATIA-LEDINGHAM-LÉOD FLEMMING. — Remarques sur le bactériophage. — *Brit. Med. Journ.*, 1922.

QUIROGA. — Bactériophage du B. pyocyane, — C. R. Soc. biol., 1923, p. 363.

- BRUYNOGHIE et APPELMANS. — La neutralisation des bactériophages. — *Arch. internationales de pharmacodynamie et de thérapie*, vol. XXVII.
- HAUDUROY et ARSIMOLES. — Syndrome dysentérique produit par le B. typhique. Guérison par le bactériophage de d'Hérelle. — *Progress Médical*, 10 février 1923.
- COURCOUX-PHILIBERT-CORDEY. — Un cas de pyélonéphrite gravidique traitée par le bactériophage. — *Soc. Méd. Hôp.*, 7 juillet 1922. — *Presse Médicale*, 12 juillet 1922.
- APPELMANS. — Au sujet de la valeur thérapeutique du bactériophage. — *Arch. intern. de Pharmacodynamie et de Thérapie*, vol. XXVII.
- 1923 BECKERICK et HAUDUROY. — Le traitement des infections urinaires à colibacilles par le bactériophage de d'Hérelle. — *Bulletin Médical*, 1923.
- HAUDUROY et PEYRE. — Le bactériophage du B. pyocyanique. — *C. R. Soc. biol.*, 1923.
- D'HÉRELLE. — Sur un principe bactériolysant, non bactériophage existant dans l'intestin des cholériques. — *C. R. Soc. biol.*, 1923, p. 723.
- LISBONNE et CARRÈRE. — Obtention du principe lytique pour le B. de Shiga par culture filtrée de B. coli. — *C. R. Soc. biol.*, 1923, p. 724.
- D'HÉRELLE. — Action du fluorure de Na sur le bactériophage. — *C. R. Soc. biol.*, 1923, p. 407.
- COMBIESCO et ALICE MAGHERN. — Sur la lyse du B. pyocyanique. — *C. R. Soc. biol.*, 1923, p. 912.
- PROCA. — Sur la lysine des bactéries lysogènes. — *C. R. Soc. biol.*, 1923, p. 909.
- CIUCA et PÉTROVANN. — Sur quelques particularités du principe lytique d'origine intestinale. — *C. R. Soc. biol.*, 1923, p. 922.

BRUYNOGHE et BRUSSAERT. — La résistance du B. à l'action de certaines substances chimiques. — C. R. Soc. biol., 1923, p. 967.

BRUYNOGHE et WAGEMANS. — La résistance des B. au sérum neutralisant. — C. R. Soc. biol., 1923, p. 968.

PHILIBERT-HAUDUROY-CORDEY. — Les applications thérapeutiques du bactériophage de d'Hérelle. — Soc. Path. comparée, décembre 1922.

BECKERICH et HAUDUROY. — Le B. de d'Hérelle. Ses applications thérapeutiques. — *Journal of Bacteriology New-York*, vol. VIII, 1923, mars.

HAUDUROY. — Recherche du bactériophage de d'Hérelle dans différents milieux. — C. R. Soc. biol., 1923, p. 1211.

H. VALLÉE et H. CARRÉ. — Note sur l'adsorption du virus aphteux. — Extrait des C. R. Acad. Sc., T. 172, p. 185, séance du 17 janvier 1921.

Travaux publiés en Langues étrangères

1921 GRATIA. — Preliminary report on a staphylococcus bacteriophage. — *Proced exp. biol. and Medicine*, T. XVIII, 20 avril, p. 217.

KÜTTNER. — On the influence of Tissue's enzymes on the bacteriophage principe. — *Proceed. Exp. biol. and Medicine*, T. XVIII, 20 avril, p. 222.

MC. LEOD AND GOVENLOCK. — The production of bacteriocidins by micro-organisme. — *The Lancet*, 30 avril, p. 900-903.

OSCAR BAIL. — Das bacteriophage virus von d'Hérelle. — *Wiener Klin. Woch.*, t. XXXIV, 18 mai, p. 237-238.

GRATIA. — Studies on the d'Hérelle phenomenon. — *J. of Exper Medicine*, t. XXXIV, p. 115-126, juillet 19, 1921.

BAIL. — Bakteriophage Wirkungen gegen Flexner und Kolibakterien. — *Wiener Klin. Woch.*, t. XXXIV, 15 sept., p. 417-419.

WOLLSTEIN. — Studies on the phenomenon of d'Herelle with bacillus Dysenterie. — *J. of Exp. Medicine*, t. XXXIV, p. 467-476, 5 planches, nov. 1921.

GILDEMEISTER. — Ueber das d'Hérelle'sche phänomän. — *Berliner Klin. Wochenschrift*, t. LVIII, p. 1355-1358, 14 novembre.

OTTO UND MUNTER. — Zum d'Herelleschen phänomän. — *Deutsche Med. Woch.*, p. 1579.

- RIMPAU. — Das d'Herelleschen phonomen. — *Münchener Med. Woch.*, p. 1619.
- 1922 BAIL UND WATANABE. — Versuche ueber spezifische bacteriophagen-Wirkung. — *Wiener Klin. Woch.*, t. XXXV, n° 9 et 16, p. 362-365, 20 avril.
- GRATIA. — The Twort phenomenon. — *Soc. of exp. Med.*, mars 1922.
- Studies on the lytic agent of Bordet et Cinca. — *Proceed. of the Society for Exper. biol. and Medic.* 1921, p. 192-193.
- Preliminary report on a staphylo bacteriophage. *Ibid*, 1921, p. 217-219.
- OTTO et FINCKLER. — Ueber die natur des d'Hérelleschen bacteriophagen. — *Deutsche Med. Wochen*, 24 mars 1922; p. 383.
- R. DOERR. — Die bakterioophagen. Phonomen von Twort und d'Herelle. — *Klin. Woch et T. I*, 22 et 29 juillet 1922, p. 1489-1495, 1537-1541.
- PRAUSNITZ. — Ueber die Nature des d'Herelleschen Phönomens. — *Klin. Woch*, 1922, T. I, 12 août, p. 1639.
- BACHMANN et AQUINO. — Sobre el bacteriofago. *Revista d. Ass. Med. Argentina*, T. XXV, avril 1922.
- BACHMANN. — El bacteriofago de d'Herelle. Comprobacion di su existencia entre nososbios. Sa presencia en los pozos ciegos. — *Prensa Medica Argentina*, 20 mars 1922.
- H. B. MAITLAND. — Experimenty employing a quantitative methode in a study of the d'Herelle phenomenon Brit. — *Journal Exp. patho.* t. III, 1922, p. 173.
- LEMOIS MONTEIRO. — Sobre o phenomeno de d'Herelle. Presenca do principio lytico nas culturas en meio solido des bacilloanthracis, B. pestis et B. Shiga Kruse, Sobre q phenomeno de Twort d'He-

- relle accao bacteriolytica et accao bacteriophagica. — *Brazilmedico*, 10 juin, 5 août 1922, p. 297-302 et II, p. 72-74.
- S. W. JANZEN et L. K. WOLFF. — Studies on the bacteriophagus of d'Herelle. — *Proc. Konink. Akad. Amsterdam t. XXV*, 25 février, 25 mars, 27 mai 1922, p. 31, 87, 171.
- JANZEN et WOLFF. — Over de reiniging der Pocken-lympe *Nederl. Tijdschrift war genees-Kunde*, 1922, I, H. n° 23.
- Over den Typhus bacteriophag. *Nederl. Tijdschrift war genees*, 37VC : C V V flisl
- D'HERELLE. — The nature of Bacter. — *Brit. Med. Journ.*, 19 juillet 1922, p. 289-293.
- TWORT. — The bacteriophage. — *Brit. Med. Journ.*, 19 juillet 1922, p. 293-296.
- J. BORDET. — Concerning the theories of the so called « Bacteriophage ». — *Brit. Med. Journal*, p. 296.
- JANZEN et WOLFF. — Ueber die Reinigung der Pocken-lympe *Cent. für Bak. 90 B. et. 1923 H.*
- Ueber den Typhusbakteriophagen, *ibid.*
- GILDEMEISTER. — Das d'Herellsche Phänomenon *B. Bli. Woch*, n° 46, 1921.
- BAIL. — Verein deutscher Deitzte 4 XI 1921, Prague in *Deutsch Med. Woch*, 1921, p. 1576.
- *Deutsch Med. Woch*, 1921, p. 1579, 29 décembre.
-

Table des Matières

Introduction.....	9
Ch. I. Aperçu historique.....	13
Ch. II. Le phénomène de d'Hérelle. Recherche du bactériophage. Le bactériophage et la bactérie.....	16
Ch. III. De quelques propriétés du bactériophage.....	29
Ch. IV. Le bactériophage et l'immunité. Le bactériophage en thérapeutique.....	36
Ch. V. — Les Théories.....	42
Ch. VI. — Bactériophage et bactériose charbonneuse. Vaccine et bactériophage. Le bactériophage saprophyte. Adsorption du bactériophage.....	45
Conclusion.....	56
Index bibliographique.....	59

—
Loges Imp. Commerciale Perrette
—

